ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Тарасовой Ольги Сергеевны на диссертацию работу Шайдуллова Ильнара Фидаиковича «Механизмы влияния короткоцепочечных жирных кислот на сократительную активность толстой кишки мыши», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология

Актуальность темы выполненной работы. Микробиота кишечника выполняет множество важных функций, включая регуляцию моторики кишечника, участие в процессах пищеварения, обеспечение организма витаминами и регуляторными молекулами, формирование иммунных реакций и др. К сожалению, образ жизни современного человека (нерегулярное и недостаточно качественное питание, стрессы, гиподинамия и пр.) ведут к изменению видового состава кишечной микробиоты и, следовательно, изменению ее секреторного фенотипа. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) обильно продуцируются кишечной микробиотой, в связи с чем они регулируют функционирование здорового кишечника. Вместе с тем КЦЖК могут оказывать влияние на развитие патологий, в том числе такого социально значимого заболевания как синдром раздраженного кишечника. Следует отметить, что клеточные механизмы эффектов КЦЖК на моторику кишечной трубки остаются во многом неясными, как и особенности реализации этих эффектов при синдроме раздраженного кишечника. На основании сказанного выше считаю тематику и результаты работы И.Ф. Шайдуллова актуальными с точки зрения как физиологии, так и фундаментальной медицины.

Оценка объема, структуры и содержания диссертации. Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, хорошо иллюстрирована и в целом построена по традиционному плану. Во введении кратко обоснованы

и четко поставлены цель и задачи работы, приведены прочие обязательные сведения.

Обзор литературы достаточно объемный, он включает три раздела, посвященные источникам/функциональной роли КЦЖК, механизмам регуляции сократительной активности толстой кишки и известным на данный момент механизмам патогенеза синдрома раздраженного кишечника. При составлении обзора И.Ф. Шайдуллов успешно манипулирует как «классическими» данными литературы, так и сведениями о научных достижениях последних лет.

Хочу отметить широкий спектр использованных И.Ф. Шайдулловым методических подходов, которые современны и адекватны решению поставленных задач. Данные in-vitro тензометрии удачно дополнены электрофизиологическими исследованиями модельных клеток. Кроме того, в работе проведено моделирование синдрома раздраженного кишечника у мышей, адекватность модели подтверждена гистологическими и функциональными методами (по чувствительности кишечной трубки к механическим воздействиям и скорости транспорта по кишечнику), а также по содержанию КЦЖК в крови животных.

Исследование характеризуется внутренней логикой, где каждый следующий этап работы базируется на результатах предыдущего и развивает его. На начальном этапе работы И.Ф. Шайдуллов охарактеризовал ингибиторные эффекты КЦЖК на спонтанные и вызванные холинергической стимуляцией сокращения кишечной трубки и в результате показал важную роль активации BK_{Ca}-каналов в этих эффектах. Далее в сравнительно простой системе (культура GH3 клеток гипофиза, которые обладают высоким уровнем экспрессии порообразующей субъединицы BK_{Ca}-каналов) с использованием метода пэтч-кламп в двух конфигурациях (регистрация тока от целой клетки и через одиночные каналы) было доказано прямое активирующее влияние КЦЖК на BK_{Ca}-каналы. После этого И.Ф. Шайдуллов перешел к изучению

сократительной активности кишечника у мышей в модели синдрома раздраженного кишечника и в результате выявил у таких животных повышение спонтанной сократительной активности кишечника и относительное повышение нейрогенного компонента холинергической активации на фоне подавления холинореактивности гладкомышечных клеток кишечника. Важно, что развитие синдрома раздраженного кишечника сопровождалось снижением эффектов КЦЖК на спонтанные сокращения кишечной трубки и полной отменой влияния КЦЖК на холинергические сократительные реакции.

За разделом «Результаты» следует заключение (изложено на 11 страницах и, по сути, является обсуждением результатов) и выводы. Список цитируемой литературы включает 259 наименований.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов, научных положений и выводов. Достоверность полученных И.Ф. Шайдулловым данных не вызывает сомнения. Объекты и методы исследования выбраны корректно. Использованные в экспериментах выборки достаточно многочисленны, результаты, полученные с использованием различных методических подходов, удачно дополняют друг друга и обеспечивают формирование целостной картины роли КЦЖК в регуляции сократительной активности здорового и патологически измененного кишечника. По результатам исследований удачно сформулированы 7 выводов, которые полностью отражают суть работы. Три выносимые на защиту положения также полностью обоснованы. Автореферат дает достаточно полное представление о диссертационной работе и оформлен надлежащим образом.

Научная новизна исследования. Подавляющее большинство полученных И.Ф. Шайдулловым характеризуются научной новизной, а именно впервые:

1) установлена связь угнетающего влияния КЦЖК на кишечную моторику

с их влиянием на нейрогенный компонент регуляции посредством активации BK_{Ca}-каналов;

2) доказано прямое активирующее влияние КЦЖК на интегральный ток через BK_{Ca}-каналы клетки, а также на вероятность открытия одиночных BK_{Ca}-каналов;

3) выявлено снижение влияния КЦЖК на сократимость хронически раздраженного кишечника.

По результатам диссертационной работы опубликованы три научные статьи из них две – в авторитетных международных журналах. Это говорит о том, что выявленные автором новые факты и закономерности получили признание научной общественности.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертационной работы И.Ф. Шайдуллова развивают современные фундаментальные представления о механизмах регуляции моторики толстого кишечника продуктами метаболизма кишечной микробиоты. Использованная и подробно охарактеризованная в работе мышиная модель синдрома раздраженного кишечника может быть использована как для дальнейшего углубленного изучения механизмов патогенеза этого социально значимого заболевания. Также эта модель будет полезной при проведении доклинических исследований фармакологических препаратов, потенциально способных облегчить состояние пациентов с синдромом раздраженного кишечника.

Замечания по диссертационной работе.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе И.Ф. Шайдуллова у меня нет. В качестве замечаний «второго порядка» можно отметить следующие.

1) Работа содержит некоторое количество несогласований и опечаток.

2) В подписях к рисункам следовало бы привести сведения о численности экспериментальных выборок (эта информация есть в тексте работы, но на

рисунках ее найти было бы проще). То же относится к методам статистического анализа данных (хотелось бы видеть указание на них в подрисуночных подписях).

3) В подписи к рисунку 4 указана «водяная рубашка», на рисунке ее нет.

4) Следовало бы подробнее описать, как проводили коррекцию состава раствора для соблюдения изоосмотичности (по всей видимости, уменьшали концентрацию NaCl?).

5) Обозначение концентрации «мМ×л$^{-1}$» - некорректное: либо мМ, либо ммоль×л$^{-1}$.

6) На рисунке 23 следовало бы привести значения и для контрольной группы (хотя бы повторить данные, приведенные на рисунке 8). Автор старался сделать это в тексте, но «контрольное» значение для эпибатидина так и не привел.

7) В тесте работы нет описания рисунка 29.

8) Непонятно, почему значения полуэффективной концентрации (EC50) приведены только в виде среднего (без «разбросов»). Если провести вычисление EC50 для индивидуальных кривых, можно было бы провести статистический анализ данных и понять, отличаются ли значения EC50 для разных КЦЖК.

9) Третье из выносимых на защиту положений, на мой взгляд, несколько скучное – хотелось бы видеть более общую формулировку, пускай даже несколько спекулятивную.

Вопросы по диссертационной работе.

1) Что автор обозначает термином «тоническое напряжение препарата»? Очевидно, что уровень силы, регистрируемый перед воздействием (или во время спонтанной активности), складывается из «пассивной» силы (соответствует состоянию полного расслабления гладкой мышцы) и «активной» силы, развиваемой гладкомышечным слоем стенки, причем

«тонус» - это именно активная составляющая. Проводили ли в работе тесты для оценки тонического сокращения гладкой мышцы препарата?

2) На основании каких критериев были выбраны использованные в работе концентрации агонистов холинорецепторов: 1 мкМ для карбахолина, 100 мкМ для бетанехола и 10 мкМ для эпибатидина. Каковы концентрационные зависимости эффектов этих агонистов для кишечника мыши?

3) Известно, что карбахолин устойчив к влиянию эстераз, а что можно сказать в отношении двух других агонистов? Не может ли изменение соотношения сократительного влияния трех использованных агонистов при синдроме раздраженного кишечника быть связано с изменением эстеразной активности ткани кишечника?

4) Почему при синдроме раздраженного кишечника были наиболее сильно подавлены реакции препаратов на бутират, тогда как эффекты пропионата практически не изменялись?

5) Автор пишет, что «отсутствие чувствительности препаратов толстой кишки мышей с экспериментальным СРК к ингибирующим эффектам экзогенных КЦЖК может быть результатом их повышенного эндогенного уровня». Связано ли такое «отсутствие чувствительности» с изменением функционирования BK_{Ca}-каналов? Если да, каков возможный механизм изменения функционирования BK_{Ca}-каналов в этих условиях?

Следует отметить, что приведенные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Вопросы также носят дискуссионный характер.

Заключение. На основании актуальности темы, большого объема исследований, научной новизны, достоверности полученных данных и высокого научно-методического уровня считаю, что диссертационная работа «Механизмы влияния короткоцепочечных жирных кислот на сократительную активность толстой кишки мыши» соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Шайдуллов И.Ф. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Официальный оппонент:
профессор кафедры физиологии человека и животных
биологического факультета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»,
доктор биологических наук, доцент

О.С. Тарасова

Сведения об оппоненте: Тарасова Ольга Сергеевна, доктор биологических наук (специальность 03.03.01 – физиология), доцент, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова, адрес: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет. Тел. +7(495) 939-14-16 (раб.), +7(926)711-52-47 (моб.), адрес электронной почты: ost.msu@gmail.com

Подпись руки профессора Тарасовой О.С. заверяю

Декан биологического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова, академик

М.Т.Кирпичников

«26» 12 2022 г.